

한국재래종 박 종자의 발아특성 및 ABA 축적*

신상훈 · 정희돈

(영남대학교 자연자원대학 원예학과)

Germination Properties and Abscisic Acid Accumulation in Korean Native Bottle Gourd(*Lagenaria siceraria*) Seeds.

Shin, Sang-Hun · Chung, Hee-Don

Dept. of Horticulture, Yeungnam University

적 요

박(*Lagenaria siceraria*) 종자의 발아불량 원인을 구명하기 위하여 발아율이 높은 '곡성' 과 낮은 '태안' 품종에 대하여 발아조건에 따른 발아율, 종자내 abscisic acid(ABA) 함량, 종피구조 및 색소함량 등을 비교하였다. 종피제거 또는 발아지에서 두 품종 다같이 전부 발아하였다. 그러나 모래와 여지를 넣은 petri dish에서 '곡성' 은 100%와 55%의 발아율을 각각 보였으나 '태안' 은 전혀 발아하지 않았다. 두 품종 모두 종피내 ABA는 개화 후 40일에 최대 함량을 보이다가 이후 수확시(개화 후 70일) 까지 급격히 감소하였다. 자엽은 개화 후 40일에는 극히 적은 양의 ABA가 존재하였으나 종자가 성숙함에 따라 약간씩 증가하였다. 종피내 ABA함량은 '태안' 이 '곡성' 보다 많았다. 종피구조에 있어서 '곡성' 은 두꺼운 내피와 공간이 큰 후벽조직층을 가진데 비하여 '태안' 은 치밀하고 두꺼운 유조직층을 가졌다. 종피내 anthocyanin 함량은 '태안' 이 '곡성' 보다 많았다. 이상의 실험결과들로 미루어보아 박종자의 발아에는 종피내 ABA함량, 종피구조 및 종피의 색소침적이 관여하는 것으로 생각되었다.

추가 주요어 : 안토시아닌, GC-MS, 종피구조

I. 서론

박(*Lagenaria siceraria*)의 미숙과는 채소, 완숙과는 용기, 조각, 악기(Robinson과 Decker-Walters, 1997), 그리고 종자는 약(Gu와 Chen, 1989) 등 다양한 용도로 이용되어 왔다. 그런데 박이 수박의 덩굴쪄김병과 같은 토양전염성 병의 예방을 위한 접목용 대목(Lee 등, 1998; Matsuo 등, 1985)으로서 가치가 인정되면서

대목용 품종육성과 채종재배가 크게 늘어나고 있다. 이 대목용 종자는 대부분 수입에 의존하고 있는데 98년도에는 77,560kg이 세관검역(NPQS, 1999)을 받고 통관되었고 대목용 박 원종을 도입하여 국내에서 채종 보급되는 종자량을 더하면 박종자의 소비량은 상당한 수준에 이를 것으로 보인다.

우리나라는 많은 재래종 박품종이 있음에도 불구하고 아직 대목용 박품종이 개발되어 있지 않은 실정이다. 그런데 Chung 등 (1999)이 수집한 한국재래

* 본 연구는 「한국원예학회지」 41권 6호(553:558), 2000에 게재됨

종 박 (이하 재래종) 종자에 대한 발아시험을 한 결과 어떤 품종은 건전한 종자에서도 발아율이 극히 낮았는데 이 발아불량 품종도 종피를 제거하든가 발아 종이에 치상했을 때는 전부 발아하였다고 한다. 완전 성숙한 건전종자가 발아되지 않은 것은 종자내 발아 억제물질의 존재(Black, 1983; Walton, 1980), 또는 종피의 구조(Duran과 Retamal, 1989; Kelly 등, 1992)와 종피내 색소침적(Baskin과 Baskin, 1998; Debeaujon 등, 2000) 등이 원인인 것으로 알려져 있다. 박품종 가운데 발아가 안되는 것도 종피제거나 발아지에서는 완전발아하나 petri dish에 여지를 깔든가 모래를 얹게 넣은 것에서 발아하지 않은 것은 종피제거시에 종피내에 들어있던 발아억제물질이 함께 제거되고 발아지에서는 발아지를 세워두었기 때문에 종자에 들어있던 억제물질이 물과 함께 유출되었기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 여지 또는 얹은 모래위에서는 누출된 억제물질이 petri dish에 그대로 남아있기 때문에 계속 발아를 저해하는 것으로 생각된다. 그리고 이 억제물질은 abscisic acid일 것으로 추정된다(Black, 1983; Braun과 Khan, 1975; Sondheimer 등, 1968).

종자의 발아율이 저조하다는 것은 우량종자로서 세일조건이 충족되지 못한다고 할 수 있다. 그래서 본 실험에서는 발아가 잘되는 '곡성'과 그렇지 않은 '태안'에 대하여 발아조건에 따른 발아율, 침지시 흡수 및 개화후 시기별 종자내 abscisic acid 함량변화 및 종피내 색소함량을 측정하였다. 그리고 종피의 단면구조를 비교하므로써 발아불량의 원인을 밝히고자 하였다.

II. 재료 및 방법

발아시험 : 한국재래종 박품종 가운데 발아가 잘 되는 '곡성'과 petri dish에서는 거의 발아하지 않는 '태안'의 종자를 이용하였다(Chung 등, 1999). 이 두 품종의 건조종자의 무게를 측정하고 20°C 물에 침지한 후 매 12시간마다 일부를 건져서 실험용 tissue paper로 종피의 물을 제거하고 중량의 증가를 측정하였다.

한편 종자의 발아조건에 따른 발아율을 조사하기 위하여 ① 직경 9cm인 petri dish에 여지 2매를 깔고 종자 20립을 치상한 것, ② 같은 petri dish에 여지대신 모래를 얹게 깔 것, ③ 발아종이에 파종한 것 및 ④ 종피를 제거하고 ①과 같은 조건에 치상한 후 발아상의 온도와 같은 25°C의 증류수를 각 조건에서 알맞게 공급하였다. 이들 종자를 암조건의 발아상(25±0.3°C)에 넣고 하루 2회씩 수분을 점검하고 공급하였다(Chung 등, 1999). 그리고 매 24시간마다 발아율을 조사하였고 치상 후 6일에 종료하였다. 모든 처리에서 3반복을 실시하였다.

Abscisic acid 정량 및 정성 : 만개한 박꽃을 인공수분시킨 후 40일부터 70일까지 매 10일마다 과실을 수확하여 채종하였다. 이 종자를 종피와 배를 포함한 자엽(이하 자엽)을 분리하여 생체중을 측정 후 -30°C의 냉동고에 보관하였다. 이 시료에 대하여 ABA를 추출(Davis 등, 1968; Lenton 등, 1971; Shiozaki 등, 1999)하기 위하여 시료를 5g씩 취하여 항산화제 butylatedhydroxytoluene 100mg·L⁻¹가 함유된 90% methanol(이하 MeOH)를 첨가하여 마쇄하였다. 이때 표준품 ABA 0, 10, 100µg을 각각 첨가한 internal standard를 만든 후 시료와 함께 분석 전 과정을 수행하였다.

마쇄한 시료에 다시 MeOH를 첨가하여 30mL 정도 되게 채운다음 5°C의 암실에서 24시간 교반시켰다. 이 액을 여과시켜 남은 잔사를 상기와 같은 방법으로 두 번 더 추출하였다. 이 여과한 액을 모두 합쳐서 수온이 35°C인 수조에서 진공감압증발기(이하 증발기)로 MeOH를 증발시키고 남은 ABA를 함유하고 있는 수용액을 냉동보관하였다. 냉동시킨 수용액을 상온에서 녹인후 4°C에서 90분간 16,000×g로 원심분리시켜 얻은 상정액을 취하여 1N HCl로 pH 2.7이 되게 조절하고 diethyl ether로 3번 더 추출한 후 ABA를 포함하고 있는 ether상을 다시 5% NaHCO₃와 증류수를 번갈아 가면서 두번씩 더 추출하였다. 이 추출액을 다시 pH 2.7이 되게 조정후 ether로 3회 반복 추출하였다. 이 ether 추출액에 대하여 Na₂SO₄로 수분을 제거하고 증발기로 ether를 휘발시킨 다음 phenol 화합

물을 제거하기 위하여 0.1M phosphate buffer(pH 8.0)를 첨가하여 세척한 후 polyvinylpyrrolidone(PVPP)이 충전된 column에 loading시켰다. 이 column을 통과하여 나온 것은 粗 ABA이므로 HCl로 다시 pH 2.7이 되게 조정 한 후 ether로 3번 추출하였다. 이 추출물을 증발기로 ether를 휘발시킨 후 남은 잔사는 비교적 순수한 ABA이다. 그러나 이 상태로는 column을 잘 통과하지 않으므로 이를 보다 휘발성이 좋게 하기 위하여 [N, o-bis(trimethylsilyl) acetamide]로 상온에서 10분간 반응시켜 trimethylsilation시켰다. 이를 GLC(gas-liquid chromatography, 5890 series II+, Hewlett Packard)와 GC-MS(gas chromatography-mass spectrometry, 5890 series II, Hewlett Packard)를 이용하여 정량 및 정성을 하였다. 이 실험에 사용한 ABA표준품은 abscisic acid(2-cis, 4-trans-Abscisic acid, 98% Aldrich, 1998)을 사용하였다.

Anthocyanin 추출 : 종피를 벗겨낸 건조시료 3g을 아주 가늘게 마쇄한 후 여기서 1g을 취하여 1% HCl-MeOH로 3회 반복추출하여 모든 액을 상기추출액으로 일정량이 되게 채운다음 비색계(Spectrophotometer UV-visible, UV-160A, Shimadzu)로 파장 535nm에서 흡광도를 측정하여 상대적 함량으로 표시하였다.

전자현미경 촬영 : 종피를 microtome으로 잘라서 동결건조시킨 절편시료를 만들어 ion coater로 백금 피막을 씌운 후 전개형 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, FE-SEM, Hitachi, S-4100)으로 촬영하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 종자의 흡수(吸水) 및 발아

건조종자를 20°C의 물에 침종한 후 매 12시간마다 종자의 무게변화를 조사한 결과(Fig. 1) '곡성'은 침종 후 24시간까지 흡수에 따른 종자무게가 빠르게 증가되었으나 이후 60시간까지 거의 평형을 유지하다가 다시 증가하기 시작하였다. 그러나 '태안'은 최초

12시간까지 증가하다 72시간까지 거의 변화가 없었다. 이러한 현상은 종피와 자엽이 다 같은 경향을 보였는데 '곡성'은 침종 후 48시간에 이미 유근이 나오기 시작하여 60시간에는 상당히 자랐으나 '태안'은 60시간에 겨우 유근이 나오기 시작하였다. Fig. 1에서 침종 후 종자무게의 증가에 있어 차이는 발아속도가 다르기 때문인 것을 알 수 있었다.

종자가 발아하는 동안 수분의 흡수는 삼상 즉 초기에 급속히 증가하는 시기, 증가하여 그대로 유지되는 시기(plateau) 및 재차 증가하는 시기가 있다고 하였는데(Bewley와 Black, 1978) '곡성'은 이와 같은 양상이 빨리 나타났으나 '태안'은 늦었다. 수분흡수는 종피의 구조 및 색소와 깊은 관련이 있는데 콩종자의 경우 종피가 흰 종자는 유색종자에 비하여 물흡수가 빠르고 빨리 발아한다고 하였다(Powell, 1989). 이와같은 예로 보아 '곡성'은 종피가 연한 회백색이고 '태안'은 진한 회갈색인데 '태안'이 흡수속도가 늦고 발아가 안되는 것은 종피에 침적된 색소가 한

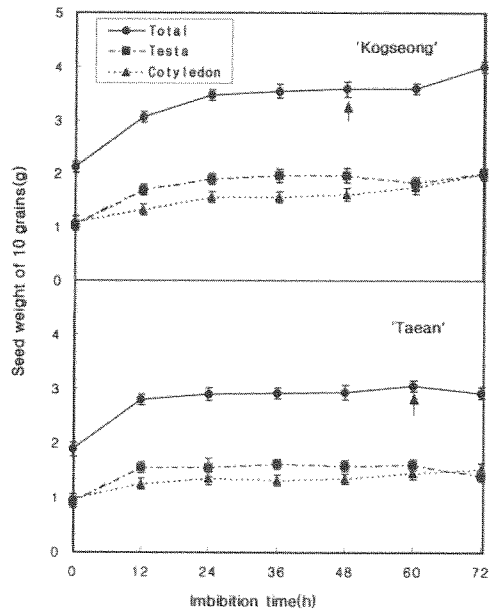


Fig. 1. Increase in weight of bottle gourd seeds after immersing in the water (20°C). Arrow : Radicles emerged. Vertical bars represent means \pm SE of 3 replications.

원인이 될 수 있다고 생각되었다(Baskin 과 Baskin, 1998).

Fig. 2는 발아상의 조건에 따른 박 품종간 발아율차이를 조사한 것이다. 종피를 제거한 '곡성'은 치상후 2일, 발아종이에서는 3일, 모래위에서는 4일내에 100% 발아하였고 petri dish에서는 6일에 55%가 발아하였다. 그러나 '태안'은 종피제거는 4일에 100%, 발아종이에서는 4일에 90%가 발아하였으나 petri dish에 모래와 여지를 깔고 파종한 것은 전혀 발아하지 않았다. 여기서 종피를 제거한 종자와 발아종이에서 가장 빨리 발아한 것은 종피에 존재하는 발아억제물질이 종피제거와 함께 없어졌기 때문인 것으로 생각되고, 발아종이는 흡수력이 강한 종이인데 이를 말아서 세워두었기 때문에 물을 공급하면 아래로 흘러내리는데 이때 종피에서 누출된 억제물질이 물과 함께 흘러 내려가기 때문인 것으로 보인다. 그런데 모래에 치상한 것에서 '곡성'은 완전 발아하였으나 '태안'은 전혀

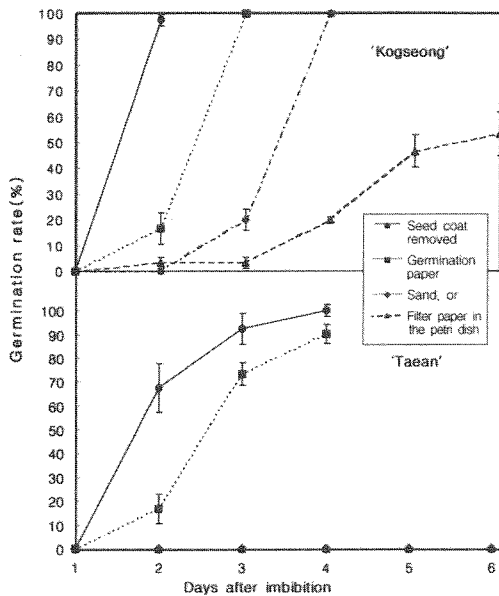


Fig. 2. Effect of substrate on germination speed of the two Korean native bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) seeds, cv. 'Kogseong' and 'Taeon'. Vertical bars represent means \pm SE of 3 replications.

발아하지 않은 것은 첫째 '곡성'은 종피에 아주 적은 양의 발아억제물질이 존재하나 이것이 누출되어 모래 밑으로 유출되었기 때문이고 '태안'은 상대적으로 많이 함유되었던 억제물질이 누출되어 모래에 축적되었기 때문인 것으로 생각된다.

종자의 휴면유기 또는 발아억제는 종자내에 존재하는 내생 ABA에 의해서 유지된다는 것은 이미 많은 보고(Black, 1983; Braun과 Khan, 1975; Schopfer 등, 1979; Walton, 1980)가 있으나 아직 박과채소 종자에 있어서 ABA의 존재와 이에 따른 발아억제에 대한 보고는 찾지 못하였다. 박과는 단단한 종피가 흡수 또는 가스교환에 장애요인으로 작용하는 것으로 인식되어 종피의 연화를 위하여 물리화학적 처리 또는 발아 potential을 높이기 위한 priming 처리 등에 의한 발아율 향상방안을 강구하여 왔다.

2. ABA의 동정

종자에서 추출한 ABA의 정확한 함량측정이 어려운 것은 정제한 ABA라 할지라도 GC에서 쉽게 기화하여 column을 통과하지 않기 때문에 정량의 어려움이 있었다. 그래서 기화를 촉진시키기 위하여 ABA에 N,O-bis(trimethylsilyl) acetamide와 반응시키는 trimethylsilylation(TMS) 된 즉 TMS-ABA를 만들면 쉽게 ABA를 정량할 수 있다(Davis 등, 1968; Shiozaki 등, 1999). 이 TMS-ABA를 GC-MS로 분자구조를 측정하는 것이 Fig. 3 A, B이다. ABA의 분자량은 264.3이고 TMS는 143.9이므로 TMS-ABA는 408.2이다(Davis 등, 1968). Fig. 3의 A는 표준품 ABA를 TMS시킨 것으로 마지막 peak에 나타난 분자량이 408이었고, Fig. 3B는 시료에서 추출한 ABA를 TMS시킨 것인데 이 분자량도 408로 완전 일치하였다. 이로서 박종자에서 추출한 물질이 ABA임을 확인할 수 있었다(Dunlap과 Guinn, 1989; Guinn 등, 1986; Tietz 등, 1979).

3. ABA함량

개화당일 인공수분 시킨 후 40일부터 70일까지 매

10일마다 과실을 수확하여 채종한 종자의 종피와 배를 포함한 자엽(이하 자엽)을 분리하여 ABA 함량을 측정하였다. Fig. 4를 보면 '곡성'은 개화 후 40일에 종피에는 생체 g당 1.60 μ g, 자엽은 0.05 μ g이 들어있어 총 1.65 μ g이 함유되어 있었는데 종피가 자엽에 비하여 32배나 많았다. 그런데 이후 급속히 감소하여 개화 후 70일에는 종피는 0.17 μ g인데 비하여 자엽은 조금씩 증가하여 0.14 μ g으로 종피와 자엽이 거의 같은 함량을 나타내어 총 0.31 μ g이었다. 이에 비하여 '태안'은 개화 후 40일에 종피가 1.26 μ g, 자엽은 0.09 μ g으로 총 1.35 μ g이었다. 그런데 '태안'도 개화 후 70일까지 종자가 성숙함에 따라 종피에서는 서서히 감소하였으나 그 감소량이 적어 개화 후 70일에는 종피에 0.26 μ g, 자엽은 0.15 μ g으로 총 0.41 μ g의 함유량을 나타내어 '곡성'보다 '태안'이 0.10 μ g이 많았다. 이 ABA 함량은 자엽에 있어서는 두 품종이 비슷하였으나 종

피에서 곡성이 0.17 μ g인데 비하여 '태안'이 0.26 μ g으로 65%나 많았다. 따라서 '태안' 품종이 petri dish에서 발아가 안되고 종피제거시 쉽게 발아하는 원인이 종피에 함유된 ABA의 높은 농도가 한 원인이 될 수 있다고 생각되었다. ABA의 존재위치는 곡물(Dashek 등, 1979; Buchanan 등, 2000)은 호분층에, 강낭콩(Hilhorst, 1995; Hsu, 1979)은 종피에 주로 분포되어 있다고 하였으나 박종자는 종피와 배를 포함한 자엽에 다같이 존재하나 품종에 따라 종피에 더 많이 함유되어 있는 품종도 있다는 것을 알 수 있다.

종자의 휴면에는 종자내에 존재하는 ABA와 GA의 함량 차이가 크게 작용하는 것으로 알려져 있으므로(Bewley와 Black, 1978; Debeaujon과 Koormeef, 2000) 앞으로 박종자에 대해서도 GA의 함량변화를 조사할 필요가 있다고 생각된다. 박종자에 ABA가 존재하여도 종자가 성숙되면서 증가할 것이라고 생각하였으나

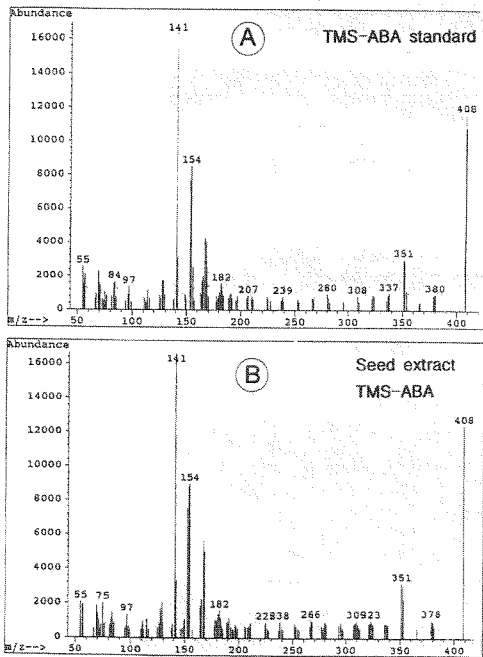


Fig. 3. Mass spectra of the fraction of authentic trimethylsilylated abscisic acid (TMS-ABA, A) and TMS-ABA extracted from bottle gourd seeds (B).

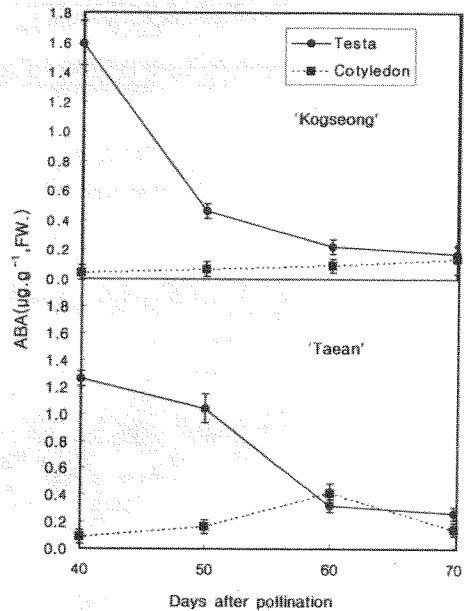


Fig. 4. Change in abscisic acid concentrations in the testa and cotyledons(including embryo)of bottle gourd seeds during fruit ripening. Vertical bars represent means \pm SE of 3 replications.

실제 분석결과는 반대로 개화 후 40일을 정점으로 하여 급속히 감소하였다. 최근 ABA가 종자의 성숙 (King, 1976; Walton, 1980)에 관여하며 토마토 (Martinez Madrid 등, 1996; Hong 등, 1999)와 사과 (Kondo 등, 1991)는 성숙기간 중에 ABA가 증가하며 강낭콩(Hsu, 1979)은 종피에서는 개화 후 22일에 최대 함량을 보이다가 급속히 감소한다고 하였다. 사과종자는 종피와 배, 과실은 과육보다 껍질에 주로 분포하는데 ABA의 증감은 과실의 성숙과 관련이 있다고 하였다(Lara와 Vendrell, 2000). 그러나 박종자는 종피

와 배를 포함한 자엽에 다같이 존재하나 '태안'은 종피에 더욱 많이 분포하였다. 박의 미숙과 수확기는 개화 후 15~17일 사이이고 이후가 되면 과피가 단단하여지고 종피가 여물어지기 시작하기 때문에 개화 후 40일 경은 이미 성숙중기에 접어들었다고 할 수 있다. 본 실험에서는 개화 후 40일 이전에는 분석하지 않아서 ABA농도를 알 수 없으나 분석을 시작한 개화 후 40일에 ABA함량이 최대치를 보이다가 완숙기까지 급속히 감소한 것은 앞의 실험결과들과 같이 박종자도 ABA가 과실성숙에 관여하며 성숙초기까지는

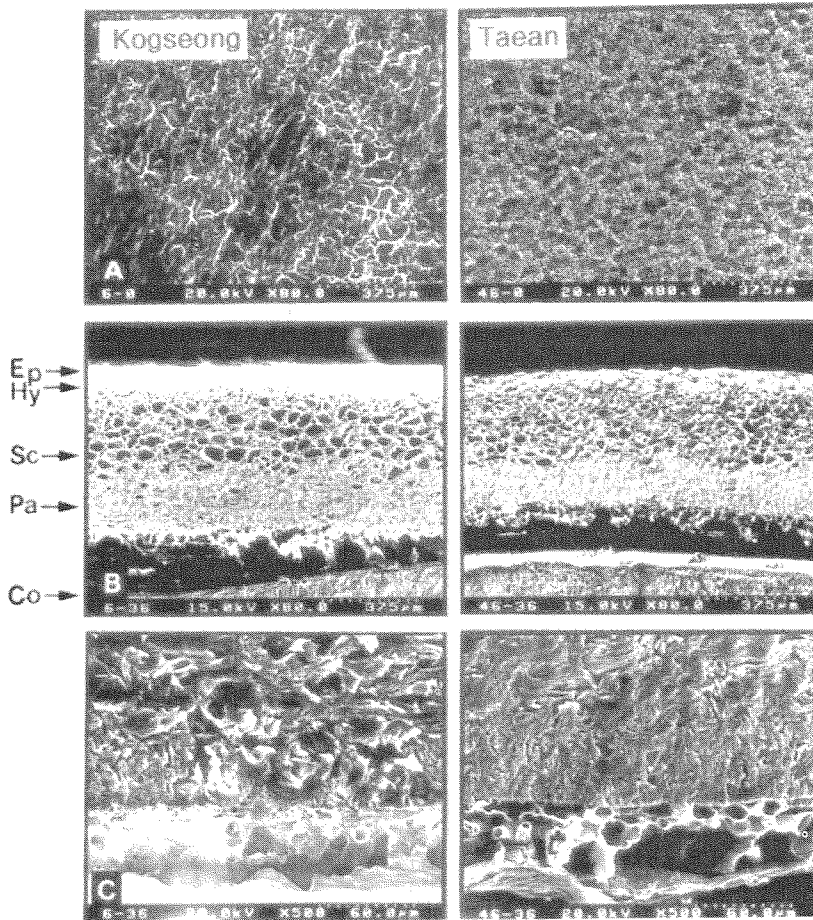


Fig. 5. Scanning electron microscopes showing the difference in the testa structure of bottle gourd seeds. Left: 'Kogseong', Right: 'Taeon'. Upper row: Surface of seeds (A), Middle row: Profile of testa (B), and Lower row: Parenchymaticlayer (C); Ep: Epidermis, Hy: Hypodermis, Sc: Sclerenchyma, Pa: Parenchyma, Co: Cotyledon.

증가하다가 이후는 감소하는 양상을 보였다.

4. 종피의 구조와 색소

Petri dish에서 발아율에 차이가 있는 '곡성'과 '태안'의 종피구조의 단면을 SEM으로 촬영하여 비교하였다(Fig. 5). 박종자의 종피구조에 대하여 조사된 것이 없어 호박(Esau, 1977)의 종피구조에 준해서 해석하여 보면 '곡성'은 두껍고 연한 하피층이 있으며 바로 밑에 세포크기가 매우 큰 후벽세포층과 유조직층으로 되어 있는데 비하여 '태안'은 下皮의 발달이 많지 않고 후벽조직의 세포크기도 적었으나 유조직은 치밀하게 발달하였다. 이 유조직을 확대하여 보면(Fig. 5C) '곡성'은 조직이 부풀려 있으나 '태안'은 매우 치밀하게 다져 있는 것을 볼 수 있다. 그런데 조직의 단면해석에 있어서 하피층은 hypodermis(Esau, 1977) 또는 내피(endothelium)라고 부르는(Debeaujon 등, 2000) 조직이 희게 보이는데 그 물질이 무엇인지 그리고 실제 이 조직층의 명칭을 무엇이라고 불러야 하는지에 대해서는 다시 확인할 필요가 있다고 생각된다.

종피의 두께는 '곡성'이 '태안'보다 두꺼웠으나 '곡성'은 종자를 만져보면 연하고 부드러운 감촉을

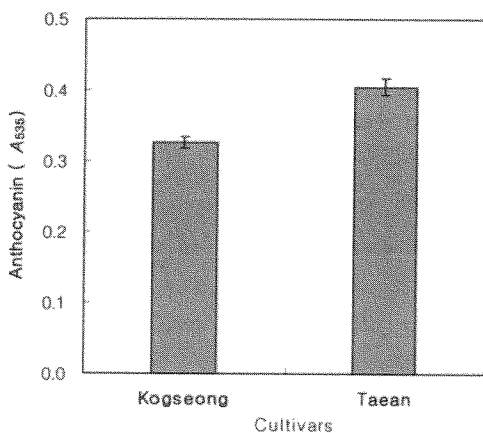


Fig. 6. Anthocyanin levels in the testa of Korean native bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) seeds cv. 'Kogseong' and 'Tae-an'.

주었고 '태안'은 매끄럽고 매우 단단하였다. 종피의 표면(Fig. 5A)을 보면 '곡성'은 약간의 균열이 나 있는 것을 볼 수 있으나 '태안'은 치밀한 요철구조를 이루고 있었다. 종자를 물에 침지했을 때 무게가 증가하지 않는 것은 종피의 불투성때문이라고 하였는데(Bansal 등, 1980) '곡성'과 '태안'은 종피의 구조적 차이 때문에 물의 흡수속도가 늦고 흡수량이 적은 것이 발아가 지연되는 또 하나의 원인이 되는 것으로 생각된다. 또 다른 요인으로 종피색을 들 수 있는데 '곡성'과 '태안'은 종자의 형태에 있어서도 다르지만 종피색도 '곡성'은 연한 회백색이나 '태안'은 회갈색이었다(Chung 등, 1999).

종피색이 종자발아에 관여한다는 보고(Baskin과 Baskin, 1998; Debeaujon과 Koornneef, 2000; Powell, 1989)는 많은데 *Arabidopsis*에 있어서는 종피의 구조적 차이는 휴면경도와 tetrazolium의 투과에 영향을 주는데 이것은 종피 내막의 색소침착과 밀접한 관계가 있다고 하였다(Debeaujon 등, 2000). 이런 결과들로 미루어 볼때 '곡성'과 '태안'의 흡수속도와 발아력차이는 이 종피에 침착된 색소도 관여하는 것으로 생각되어 두 품종에 대하여 종피 내에 함유되어 있는 anthocyanin을 측정한 결과(Fig. 6) '태안'이 '곡성'보다 현저히 많았다. '태안'은 '곡성'보다 진한 회갈색을 띄어 종피에 색소가 많음을 육안으로도 알 수 있는데 종피의 조직속에 이 색소침착이 발아지연 또는 억제역할을 할 수 있는 가능성도 있다고 생각된다. 한국재래종 박은 다양한 종피색이 존재하므로(Chung 등, 1999) 품종에 따른 색소의 종류와 농도 및 색소발현시기 등을 조사하고 종피색과 발아력과의 관계에 대한 연구가 요구된다.

참고 문헌

1. Bansal, R.P., P.R. Bhati, and D.N. Son(1980), Differential specificity in water imbibition of Indian arid zone seeds, *Biol. Plant*, 22: 327-331.
2. Baskin, C.C and J.M. Baskin(1998), *Seeds ecology, biography and evolution of dormancy and germination*, p. 213, Academic Press NY.

3. Bewley, J.D. and M. Black(1978), Physiology and biochemistry of seeds, p. 116. Springer-Verlag, NY.
4. Black, M(1983), Abscisic acid in seed germination and dormancy, p. 331-364. In: F.T. Addicott(ed). Abscisic acid, Praeger Publishers, NY.
5. Braun, J.W. and A.A. Khan(1975), Endogenous abscisic acid levels in germinating and nongerminating seeds, Plant Physiol. 56: 731-733.
6. Buchanan, B.B., W. Gruissem, and R.L. Jones (2000), Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Amer. Soc. Plant Physiol. Rockville, Maryland USA. p. 865-873.
7. Chung, H.D., Y.J. Choi, and S.H. Shin(1999), Morphological characteristics and germination of the Korean native bottle gourd(*Lagenaria siceraria Standl.*) seeds, J. Kor. Soc. Hort. Sci. 40: 317-221.
8. Dashek, W.V., B.N. Singh, and D.C. Walton (1979), Abscisic acid localization and metabolism in barley aleurone layers, Plant Physiol. 64: 43-48.
9. Davis, L.A., D.E. Heinz, and F.T. Addicott(1968), Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of abscisic acid and other plant hormones, Plant Physiol. 43: 1389-1394.
10. Debeaujon, I. and M. Koornneef(2000), Gibberellin requirement for Arabidopsis seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid, Plant Physiol. 122: 415-424.
11. Debeaujon, I., K.M. Leon-Kloosterziel, and M. Koornneef(2000), Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in Arabidopsis, Plant Physiol. 122: 403-413.
12. Dunlap, J. and G. Guinn(1989), A simple purification of indole-3-acetic acid and abscisic acid for GC-SIM-MS analysis by microfiltration of aqueous samples through nylon, Plant Physiol. 90: 197-201.
13. Duran, J.M. and N. Retamal(1989), Coat structure and regulation of dormancy in *Sinapis arvensis* L. seeds, J. Plant Physiol. 135: 218-222.
14. Esau, K.(1977), Anatomy of Seed Plants 2nd ed, John Wiley & Sons, NY. p. 463.
15. Gu, Z. and Y. Chen(1989), A dietary cure of vegetables, p. 170-172. China Agri. Sci. and Tech. Pub. Co, Beijing.
16. Guinn, G., D.L. Brummett, and R.C. Beier(1986), Purification and measurement of abscisic acid and indoleacetic acid by high performance liquid chromatography, Plant Physiol. 81: 997-1002.
17. Hilhorst, H.W.M(1995), A critical update on seed dormancy, I. Primary dormancy, Seed Sci. Res. 5: 61-73.
18. Hong, S.J., S.K. Lee, and S.W. Park(1999), Effects of abscisic acid on ripening of tomato fruits, J. Kor. Soc. Hort. Sci. 40: 521-524.
19. Hsu, F.C.(1979), Abscisic acid accumulation in developing seeds of *Phaseolus vulgaris* L., Plant Physiol. 63: 552-556.
20. Kelly, K.M., J. vanStaden, and W.E. Bell(1992), Seed coat structure and dormancy, Plant Growth Regul. 11: 201-209.
21. King, R.W.(1976), Abscisic acid in developing wheat grains and its relationship to grain growth and maturation, Planta 132: 43-51.
22. Kondo, S., J. Uthaibutra, and H. Gemma(1991), Comparison of ACC, abscisic acid and anthocyanin content of some apple cultivars during fruit growth and maturation, J. Japan. Soc. Hort. Sci. 60: 505-511.
23. Lara, L. and M. Vendrell(2000), Changes in abscisic acid levels, ethylene biosynthesis, and protein patterns during fruit maturation of 'Granny Smith' apples, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125: 183-189.

24. Lee, J.M., H.J. Bang, and H.S. Ham(1998), Grafting of vegetables, J. Japan Soc. Hort. Sci. 67: 1098-1104.
25. Lenton, J.R., V.M. Perry, and P.F. Saunders (1971), The identification and quantitative analysis of abscisic acid in plant extracts by gas-liquid chromatography, *Planta* 96:271-280.
26. Martinez Madrid, M.C., M. Serrano, F. Riquelme, and F. Romojaro(1996), Polyamine, abscisic acid and ethylene production in tomato fruit, *Phytochemistry* 43: 323-326.
27. Matsuo, S., D. Ishiuchi, and T. Kohyama(1985), Breeding of new cultivar of bottle gourd 'Kenshi' for rootstock of watermelon, *Bull. Veg. Ornament. Crops. Res. Sta. Series C*: 1-121. Kurume, Japan.
28. National Plant Quarantine Service(NPQS)(1999), Year book of plant quarantine statistics, NPQS. Seoul, Korea.
29. Powell, A.A.(1989), The importance of genetically determined seed coat characteristics to seed quality in grain legumes, *Ann. Bot.* 63: 169-195.
30. Robinson, R.W. and D.S. Decker-Walters(1997), *Cucurbits*, CABI.
31. Schopfer, P., D. Bajracharya, and C. Plachy (1979), Control of seed gemination by abscisic acid. I. Time course of action in *Sinapsis alba* L., *Plant Physiol.* 64: 822-827.
32. Shiozaki, S., Y. Kamata, T. Ogata, S. Horiuch, and K. Kawase(1999), Localization of abscisic acid in grape berry by immunohistochemical techniques, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68:1-9.
33. Sondheimer, E., D.S. Tzouand, and E.C. Galson (1968), Abscisic acid levels and seed domnancy, *Plant Physiol.* 43: 1443-1447.
34. Tietz, D., K. D rffling, D. W hrl, Inge Erxleben, and F. Liemann(1979), Identification by combined gas chromatography-mass spectrometry of phaseic acid and dihydrophaseic acid and characterization of further abscisic acid metabolites in pea seedlings, *Planta* 147: 168-173.
35. Walton, D.C(1980), Abscisic acid and germination, p. 145-154. In: A.A. Khan(ed). *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, The Netherlands.